

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-101519

(P2004-101519A)

(43) 公開日 平成16年4月2日(2004. 4. 2)

(51) Int. Cl.⁷

F I

テーマコード (参考)

GO 1 N 27/327

GO 1 N 27/30 3 5 3 Z

2 G 0 4 5

GO 1 N 33/483

GO 1 N 33/483 F

GO 1 N 33/66

GO 1 N 33/66 D

GO 1 N 27/30 3 5 3 R

GO 1 N 27/30 3 5 3 P

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2003-291150 (P2003-291150)
 (22) 出願日 平成15年8月11日 (2003. 8. 11)
 (31) 優先権主張番号 特願2002-239282 (P2002-239282)
 (32) 優先日 平成14年8月20日 (2002. 8. 20)
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(71) 出願人 000003159
 東レ株式会社
 東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号
 (71) 出願人 000005821
 松下電器産業株式会社
 大阪府門真市大字門真1006番地
 (74) 代理人 100091384
 弁理士 伴 俊光
 (72) 発明者 中原 勝次
 滋賀県大津市園山1丁目1番1号 東レ株
 式会社滋賀事業場内
 (72) 発明者 伊藤 喜代彦
 滋賀県大津市園山1丁目1番1号 東レ株
 式会社滋賀事業場内

最終頁に続く

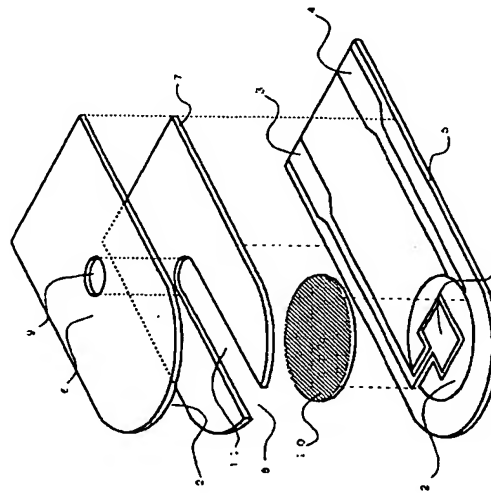
(54) 【発明の名称】 バイオセンサ

(57) 【要約】

【課題】 キャビティ内より外部に通じる空気孔からの液体試料の流れ出しを防ぐことで測定精度の高い優れたバイオセンサを提供する。

【解決手段】 空気孔の周辺部が 水性を有し、その表面自由エネルギーが43mN/m以下であること、例えばシリコン系樹脂、フルオロカーボン系樹脂等を塗布したり、研磨などにより表面の平滑性を持たせることが好ましい態様として含まれる。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

液体試料が導入されるキャビティと、該キャビティ内より外部に通じる空気孔とを具備し、導入された前記液体試料と試薬との反応により液体試料中の成分を分析可能なバイオセンサにおいて、少なくとも前記キャビティの外表面における前記空気孔の周辺部が水性を有していることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 2】

基板とカバーによりキャビティが構成され、該キャビティは、液体試料の入口とその入口より毛細管現象にて液体試料の導入を促進する為の空気孔とを備え、導入された前記液体試料と試薬との反応により液体試料中の成分を分析可能なバイオセンサにおいて、前記キャビティを構成する基板またはカバーの外表面のうち、少なくとも前記空気孔の周辺部が水性を有していることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 3】

前記空気孔周辺部の表面自由エネルギーが 43 mN/m 以下であることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載のバイオセンサ。

【請求項 4】

前記空気孔周辺部が化学的な処理を施すことで水性を有することを特徴とする請求項 1 または 2 に記載のバイオセンサ

【請求項 5】

前記化学的な処理が水性の高い物質を塗布することであることを特徴とする請求項 4 に記載のバイオセンサ。

【請求項 6】

前記水性の高い物質が、シリコンオイル、シリコン系、ハイドロカーボン系、フルオロカーボン系、ワックス系、ポリエチレンイミノーオクタデシルイソシアネート系やポリ(メタ)アクリル酸エステル系、ポリスチレン系、ポリエチレン系、ポリプロピレン系樹脂であることを特徴とする請求項 5 に記載のバイオセンサ。

【請求項 7】

前記空気孔周辺部が物理的な処理を施すことで水性を有することを特徴とする請求項 1 または 2 に記載のバイオセンサ。

【請求項 8】

前記物理的な処理が研磨などによる表面平滑処理であることを特徴とする請求項 7 に記載のバイオセンサ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、種々の微量の液体試料中の特定成分、例えば血液や尿等の生体液中に含まれる特定の成分を検査・定量する際に用いられるバイオセンサに関し、液体試料が導入されるキャビティと前記キャビティ内より外部に通じ毛細管現象を促進する為の空気孔とを具備したバイオセンサにおいて、空気孔からの特に表面張力の低い液体の流れ出しを防ぐことに特徴があるものである。

【背景技術】

【0002】

液体試料中の特定の成分を定量するバイオセンサとして、例えば血液中のグルコースとセンサ中に担持されたグルコースオキシダーゼ、フェリシアン化カリウム等の試薬との反応により得られる電流値を計測することにより血糖値などを求めるものがある。

【0003】

図 1 は、そのような従来の血糖値測定用のバイオセンサを示す分解斜視図である。なお、図 1 に示すバイオセンサの主要構成は、本発明に係るバイオセンサにおいても同様であり、本発明においては各部に改良や変更が施される。図 1 において、ポリエチレンテレフタレート等からなる絶縁基板 5 上には、スクリーン印刷等により作用極 1 と対極 2 からな

10

20

30

40

50

る電極が形成されており、これら電極上には酵素であるグルコースオキシダーゼ、電子伝達体であるフェリシアン化カリウム及び親水性高分子であるカルボキシメチルセルコースなどを含む試薬層10が形成されている。

【0004】

そしてある量の血液を採取し、採取した血液と試薬層10との反応で生じる電流値を上記電極で検出するためのキャビティ11を形成するため、電極および試薬上の部分を細長く切り欠いたスパーサ7と、空気孔9を形成したカバー6とを絶縁性基板5上に貼り合わせている。

【0005】

このような構成のバイオセンサにおいて、血液は吸引口8から毛細管現象によりキャビティ11内に導入され、電極と試薬のある位置まで導かれる。そして、電極上での血液と試薬との反応により生じる電流値は、リード3、4を通じて図示しない外部の測定装置に接続して読みとられる。

10

【0006】

しかしながら、キャビティ内部に吸引された液体試料が、例えば粘性の著しく低い血液や、例えば水溶性高分子などが配合されたコントロール液（市場において一般的に測定機の動作異常を確認するために用いられている標準液）のように表面張力が低い場合には、キャビティ内より外部に通じる空気孔9から液体試料が流れ出す現象が稀に見られる。このような現象が発生した場合には、空気孔9から液体試料に溶解された反応試薬がキャビティ外部に流出することによってキャビティ内の試薬濃度が希薄になり応答値の低下を招くおそれがある。また、流れ出した液体試料がセンサを測定機から取り外す時に手に付着するといった操作面での問題もあった。このような現象はカバー6の裏面側（キャビティに接する面）に液体試料のキャビティ内への吸引を促進する目的で界面活性剤等を形成している場合に発生し易く、特に高温多湿環境下での保存においては界面活性剤のブリードが起りやすいため、その発生頻度は高まる。

20

【特許文献1】特開2002-214187号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明の課題は、かかる問題点を解決し、液体試料の空気孔からの流れ出しを防ぐことにより、測定精度の高い優れたバイオセンサを提供することにある。

30

【課題を解決するための手段】

【0008】

上記課題を解決するために、本発明のバイオセンサは、液体試料が導入されるキャビティと、該キャビティ内より外部に通じる空気孔とを具備し、導入された前記液体試料と試薬との反応により液体試料中の成分を分析可能なバイオセンサにおいて、少なくとも前記キャビティの外表面における前記空気孔の周辺部が水性を有していることを特徴とするものからなる。

【0009】

また、上記課題を解決するために、本発明のもう一つのバイオセンサは、基板とカバーによりキャビティが構成され、該キャビティは、液体試料の入口とその入口より毛細管現象にて液体試料の導入を促進する為の空気孔とを備え、導入された前記液体試料と試薬との反応により液体試料中の成分を分析可能なバイオセンサにおいて、前記キャビティを構成する基板またはカバーの外表面のうち、少なくとも前記空気孔の周辺部が水性を有していることを特徴とするものからなる。

40

【0010】

本発明のバイオセンサにおいては、空気孔の周辺部の表面自由エネルギーが43 mN/m以下であることが好ましい。また、空気孔の周辺部が水性を有する為には化学的・物理的处理を施す必要があり、化学的处理としては、シリコン系樹脂やフルオロカーボン系樹脂などの水性の高い物質を表面に塗布することが好ましい。一方、物理的处理とし

50

ては、表面を研磨することによって平滑性を持たせることが好ましい。

【発明の効果】

【0011】

本発明に係るバイオセンサによれば、キャビティの外表面における空気孔の周辺部が水性を有しているため、外部に通じる空気孔からの液体試料の流れ出しを防ぐことができ、測定精度の高い優れたバイオセンサを提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0012】

以下に、本発明について、望ましい実施の形態とともに詳細に説明する。

本発明は、液体試料が導入されるキャビティと前記キャビティ内より外部に通じる空気孔とを具備し、導入された前記液体試料と試薬の反応により液体試料中の成分を分析可能なバイオセンサについてである。すなわち、全体の主要構成は図1に示したものと同等の構成であるが、少なくともキャビティの外表面における空気孔の周辺部が水性を有することに特徴がある。そして空気孔の周辺部の表面自由エネルギーが43 mN/m以下であることに特徴がある。

【0013】

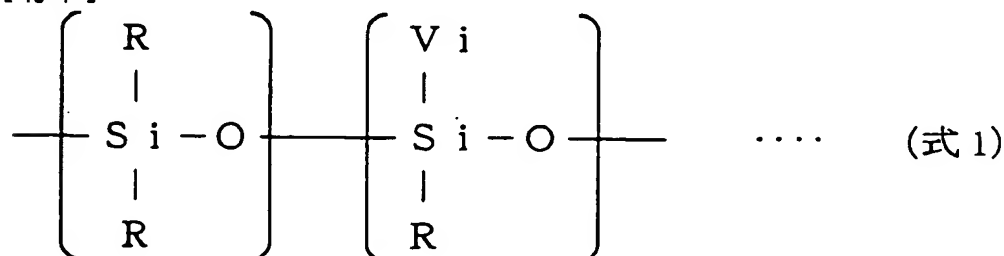
本発明では、少なくともキャビティの外表面における空気孔の周辺部に水性を持たせれば良いが、さらに空気孔の断面に水性を持たせても良好な結果を得ることができる。またキャビティ11を形成するカバー6の外表面全面、あるいは基板5の外表面全面に水性を持たせても良い。ここで表面自由エネルギーを43 mN/m以下にするには、例えば、シリコンオイル、シリコン系、ハイドロカーボン系、フルオロカーボン系、ワックス系、ポリエチレンイミン-オクタデシルイソシアネート系やポリ(メタ)アクリル酸エステル系、ポリスチレン系、ポリエチレン系、ポリプロピレン系樹脂等を有機溶剤や水に適宜溶解・分散して塗布したり、カバーに練り込んだりすることにより効果を得られるが、特にシリコン系樹脂、フルオロカーボン系樹脂を表面に塗布することで非常に大きな効果を得ることができる。ここで、該シリコン系樹脂としては、ジメチルポリシロキサン等のジアルキルポリシロキサン、フェニルメチルポリシロキサン、フッ素基含有ジアルキルポリシロキサン等のポリオルガノシロキサンあるいはその混合物あるいはその共重合物を主成分として架橋されたもの、前記ポリオルガノシロキサンを側鎖に有するアクリル樹脂、エポキシ樹脂、ウレタン樹脂等の有機樹脂、あるいはシリコン系レジンが好ましく挙げられる。特に、前記ポリオルガノシロキサンの架橋が付加反応型で行われたものが本発明の目的、効果をより明確にするため好ましい。

【0014】

この場合、下記(式1)式で代表されるポリオルガノシロキサンとオルガノハイドロジェンポリシロキサンとを塩化白金酸に代表される白金系触媒の存在下で付加反応させてシリコンの架橋構造を形成させる方法が一般に用いられる。この場合の架橋構造を得るための硬化反応(加熱硬化あるいは紫外線硬化等)は、それぞれ個別または同時に行うことができる。同時に行うときには、プラスチックフィルムの耐熱性(熱的寸法安定性)にも左右されるが、70℃～200℃、好ましくは120℃～160℃の温度範囲で15秒以上加熱することが好ましい条件として用いられる。

【0015】

【化1】



た)を用い、20℃、50%RHの条件下で接触角計CA-D型(協和界面科学■製)にて各液体での接触角を測定した。この値を拡張Fowkes式とYounの式より導入される下記式を用いて各成分を計算した。

$$(\gamma S^d \cdot \gamma L^d)^{1/2} + (\gamma S^p \cdot \gamma L^p)^{1/2} + (\gamma S^h \cdot \gamma L^h)^{1/2} = \gamma L (1 + \cos \theta) / 2$$

ここで γL^d 、 γL^p 、 γL^h 、 γL は測定液の分散力、極性力、水素結合力の各成分および各成分のトータルの表面自由エネルギーを示し、 γS^d 、 γS^p 、 γS^h は測定面上の分散力、極性力、水素結合力の各成分を示す。また、 θ は測定面上での測定液の接触角を表す。1つの測定面に対し5個測定を行いその平均値を θ とした。既知の値および θ を上記の式に代入し、連立方程式により測定面の3成分を求める。なお計算は数値計算ソフトである「Mathematica」の「FindMinimum」のコマンドを用いた。

【0023】

(2) 付着量

塗布液を塗布した基材100cm²の重量を測定し(A)、次に塗布前の基材100cm²の重量を測定し(B)、(A-B)×100で付着量(μ/m²)を算出した。

【0024】

【各部材の作製方法】

次に、各部材の作製方法について以下に説明する。

(1) スペーサ

東レ(株)製ポリエチレンテレフタレートフィルム“ルミラー”(タイプ100E20)を基材とした。

【0025】

(2) カバーA

東レ(株)製ポリエチレンテレフタレートフィルム“ルミラー”(タイプ100T60)面に付加反応型シリコン(東レダウコーニングシリコン製LTC850G)を0.1μ/m²塗布したものを基材とし、パンチングプレスにてφ0.5mmの空気孔を設けた。(空気孔の周辺部の表面自由エネルギーは12.0mN/mであった)

【0026】

(3) カバーB

東レ(株)製ポリエチレンテレフタレートフィルム“ルミラー”(タイプ100T60)にポリエステルフィルム製造工程中にアクリル系樹脂を0.1μ/m²塗布した(インラインコート法)ものを基材とし、パンチングプレスにてφ0.5mmの空気孔を設けた。(空気孔の周辺部の表面自由エネルギーは41.0mN/mであった)

【0027】

(4) カバーC(比較例)

東レ(株)製ポリエチレンテレフタレートフィルム“ルミラー”(タイプ100T60)を基材とし、パンチングプレスにてφ0.5mmの空気孔を設けた。(空気孔の周辺部の表面自由エネルギーは46.9mN/mであった)

【0028】

【バイオセンサ(血糖センサ)の作製方法】

東レ(株)製ポリエチレンテレフタレートフィルム“ルミラー”(タイプ250H10)5上に、スクリーン印刷法により作用極1及び対極2からなる電極を設け、その上に酵素(グルコースオキシゲナーゼ)、電子伝達体(フェリシアン化カリウム)および親水性高分子(カルボキシメチルセルロース)などを含む試薬層10を形成し、その上から、前記各部材の作製方法(1)の手順で作製した切り欠け部を有するスペーサ7と、前記各部材の作製方法(2)または(3)または(4)の手順で作製したカバーAまたはカバーBまたはカバーCとを接着することによって、血液が導かれるキャビティを備えた血糖センサを作製した。空気孔9はφ0.5mmとし、各々のカバーの裏面(キャビティと接する面)には界面活性剤をコーティングした。

【0029】

10

20

30

40

50

表 1 はカバー A、B、C を用いて作製された本実施例センサと従来センサの空気孔からの液体試料の流れ出しの発生頻度とそれに伴うセンサ精度を比較したものである。また、液体試料の流れ出しは高温・多湿環境下保存で顕著に観察される為、ここでは 40℃80% の環境で 1 ヶ月間保存されたセンサを用いて評価を行なった。この際の液体には水溶性高分子を含む表面張力の小さいコントロール液を使用した。

【0030】

表 1 から明らかなように、従来カバーであるカバー C を用いて作製されたセンサで観察された液体試料の流れ出しは、カバー A あるいは B を用いることで改善されている。これは、カバー（空気孔周辺）の表面自由エネルギーが液体試料の流れ出しに大きく関与していることを示唆するものである。

【0031】

また流れ出しが発生しなくなることで、センサ精度の向上が確認された。これは、み出しが発生しなくなることで、キャピティ内に一定量の液体試料を保持することが可能となり、空気孔から液体試料に溶解された反応試薬の不必要な流出を防ぐことができるため、均一な応答値が得られたことを示唆するものである。

【0032】

【表 1】

液体試料の空気孔からの流れ出し (n=40) と
それに伴うセンサ精度 (n=20 の C、V. 値) 比較

| | | 実施例センサ | | 従来センサ |
|-------|----------|--------|------|---------|
| カバー | | A | B | C (比較例) |
| 滲み出し | 発生件/母数 | 0/40 | 0/40 | 8/40 |
| センサ精度 | 40mg/dl | 3.5% | 3.8% | 4.5% |
| | 120mg/dl | 1.9% | 1.4% | 3.1% |
| | 350mg/dl | 1.2% | 1.5% | 2.6% |

【0033】

上記実施例においては血液中のグルコース濃度を計測するバイオセンサについて示したが、測定対象とする液体試料、物質、およびバイオセンサの形式はこれに限定されるものではない。

【0034】

例えば、液体試料としては血液以外にも生体試料液として唾液、細胞間質液、尿や汗などを、また、食品や飲料水なども用いることができる。

【0035】

対象物質としては、グルコース以外にも乳酸、コレステロール、尿酸、アスコルビン酸、ビリルビンなどを用いることができる。

【0036】

バイオセンサに用いる電極材料としてはカーボンや金、白金、パラジウムなどの貴金属があり、電極形成方法としては前述のスクリーン印刷法以外にもスパッタリング蒸着法などを用いることができる。

【0037】

また、グルコースオキシダーゼ以外の酵素としては、ラクテートオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、コレステロールエステラーゼ、ウリカーゼ、アスコルビン酸オキシダーゼ、ビリルビンオキシダーゼ、グルコースデヒドロゲナーゼ、ラクテートデヒドロ

グナーゼなどを、電子伝達体としてはフェリシアン化カリウム以外にもP-ベンゾキノン及びその誘導体、フェナジンメトサルフェート、メチレンブルー、フェロセン及びその誘導体などを、また、親水性高分子としてはカルボキシメチルセルロース以外にもヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルエチルセルロース、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリリジン等のポリアミノ酸、ポリスチレンスルホン酸、ゼラチン及びその誘導体、アクリル酸及びその塩、メタクリル酸及びその塩、スターチ及びその誘導体、無水マレイン酸およびその塩、アガロースゲル及びその誘導体などがあげられる。

【0038】

10

これらの試薬を含む試薬層は電極上の全面もしくは一部に配置する以外にも、センサ性能を悪化させない限り、液体試料が導かれるキャビティ内であれば何れの場所に配置しても構わない。

【0039】

また、電流測定においては、作用極と対極のみの2電極方式と、参照極や液体試料液不足を検知する検知極などを加えた3電極方式があり、3電極方式のほうがより正確な測定が可能である。

【産業上の利用可能性】

【0040】

本発明は、外部に通じる空気孔からの液体試料の流れ出しを防ぐことができ、測定精度を向上することができる。

20

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図1】バイオセンサの主要構成を示す分解斜視図である。

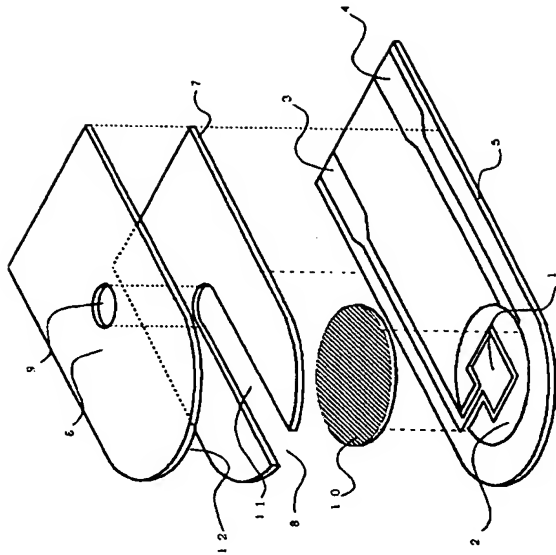
【符号の説明】

【0042】

- 1 作用極
- 2 対極
- 3 作用極用リード
- 4 対極用リード
- 5 絶縁基板
- 6 カバー
- 7 スペーサ
- 8 吸引口
- 9 空気孔
- 10 試薬層
- 11 キャビティ

30

【図 1】



【手続補正書】

【提出日】平成15年11月17日(2003.11.17)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0022】

本発明における特性の評価方法について次に説明する。

(1) 表面自由エネルギー

表面自由エネルギーおよびその各成分(分散力、極性力、水素結合力)が既知の4種の液体(本発明ではPauzeurによる方法IV(日本接着協会誌Vol. 15、No. 3、P96に記載の水、エチレングリコール、ホルムアミド、ヨウ化メチレンの数値を用いた)を用い、20℃、50%RHの条件下で接触角計CA-D型(協和界面科学(株)製)にて各液体での接触角を測定した。この値を拡張Fowkes式とYoungの式より導入される下記式を用いて各成分を計算した。

$$(\gamma S^d \cdot \gamma L^d)^{1/2} + (\gamma S^p \cdot \gamma L^p)^{1/2} + (\gamma S^h \cdot \gamma L^h)^{1/2} = \gamma L (1 + \cos \theta) / 2$$

ここで γL^d 、 γL^p 、 γL^h 、 γL は測定液の分散力、極性力、水素結合力の各成分および各成分のトータルの表面自由エネルギーを示し、 γS^d 、 γS^p 、 γS^h は測定面上の分散力、極性力、水素結合力の各成分を示す。また、 θ は測定面上での測定液の接触角を表す。1つの測定面に対し5個測定を行いその平均値を θ とした。既知の値および θ を上記の式に代入し、連立方程式により測定面の3成分を求める。なお計算は数値計算ソフトである「Mathematica」の「FindMinimum」のコマンドを用いた。

フロントページの続き

(72)発明者 宮崎 正次

愛媛県温泉郡川内町南方 2 1 3 1 番地 1 松下寿電子工業株式会社内

(72)発明者 徳永 博之

愛媛県温泉郡川内町南方 2 1 3 1 番地 1 松下寿電子工業株式会社内

(72)発明者 山四 永史子

愛媛県温泉郡川内町南方 2 1 3 1 番地 1 松下寿電子工業株式会社内

Fターム(参考) 2G045 CA25 CB03 CB07 CB12 DA03 DA04 DA31 DA58 DA69 FA34

FB01 FB11 GC20 JA07